

ГУ «Госфармнадзор»

# Валидация аналитических методик Рекомендации

Ведущий специалист УОККЛС

Вероника Александровна  
Сидоренко

2022

## Документы, используемые при валидации аналитических методик

Государственная фармакопея Республики Беларусь

СТБ ИСО/МЭК 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий»

Руководство ICH Q2 «Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology»

Руководство PA/PH/OMCL (13) 82 R5 «Validation/Verification of Analytical Procedures»

## Валидация аналитических методик: последовательность действий

- Составить подробную стандартную операционную процедуру (СОП)
- Обучить персонал
- Подобрать подходящую методику
- Разработать валидационный протокол
- Приобрести необходимые реактивы и материалы
- Выполнить запланированные испытания
- Сформировать отчет
- Оценить результаты

## Валидация аналитических методик: СОП

- Персонал, проводящий валидацию
- Используемое оборудование, реактивы и материалы
- Порядок выбора аналитической методики
- Порядок формирования валидационного протокола
- Порядок ведения записей
- Выбор критериев приемлемости
- Действия при возникновении отклонений

## Валидация аналитических методик: выбор методики

- Фармакопейные методики (ГФ РБ, Ph. Eur., USP, BP, International Pharmacopoeia)
- Методики других производителей лекарственных средств
- Методики анализа ФС (фармакопейные), используемые для контроля ГЛС
- Опубликованные нефармакопейные методики

# Валидация аналитических методик: выбор методики



## European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition



Get access to harmonised quality standards applicable in Europe from 1 January 2021

- Why you need the European Pharmacopoeia



**usp** **USP-NF**

USP-NF Standard Updates ▾ Pharmacopeial Forum ▾ Notices USP-NF ▾ Resources ▾

**New features for your USP-NF Online toolkit!**  
Direct links to USP Education training and "Revision Jumper" tool now available.

[Click here for more details with screenshots](#)

USP-NF Updates

# Валидация аналитических методик: выбор методики



azithromycin usp monograph

Усе Відарысы Відэа Болей

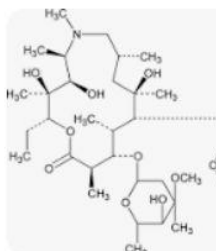
Інструменты

Вынікаў каля 242 000 (0,61 с)

USP Monographs: Azithromycin. (anhydrous) 749.00 [83905-01-5]. ... It contains the equivalent of not less than 945 µg and not more than 1030 µg of azithromycin (C<sub>38</sub>H<sub>72</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>) per mg, calculated on the anhydrous basis. Labeling— Label it to indicate whether it is the monohydrate or the dihydrate.

<http://www.pharmacopeia.cn> › usp29nf24s0\_m6740

USP Monographs: Azithromycin - USP29-NF24



<https://www.uspnf.com> › files › USPNF › revisions PDF

Azithromycin Tablets - USP-NF

25 сьр 2019 г. — contents of the currently official **monograph**. Please refer to the current edition of the **USP–NF** for official text. **USP** provides this text to ...

<http://www.uspnf.com> › default › files › usp\_pdf PDF

Azithromycin Tablets - USP-NF

**USP** Reference standards <11>—**USP** Azaerythromycin A RS. **USP** through a filter having porosity of 0.45-µm, and degas. **Azithromycin** RS. Solution B—A filtered ...

Notice of Intent to Revise  
Official: To Be Determined

## Azithromycin Tablets

**DEFINITION**  
Azithromycin Tablets contain NLT 90.0% and NMT 110.0% of the labeled amount of azithromycin (C<sub>38</sub>H<sub>72</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>).

**IDENTIFICATION**  
• **A.** The retention time of the major peak of the *Sample solution* corresponds to that of the *Standard solution*, as obtained in the *Assay*.

**ASSAY**  
• **PROCEDURE**  
**Buffer:** Dissolve 4.6 g of monobasic potassium phosphate anhydrous in 900 mL of water. Adjust with 1 N sodium hydroxide to a pH of 7.5, and dilute with water to 1 L.  
**Mobile phase:** Acetonitrile and *Buffer* (65:35)  
**Standard solution:** 1 mg/mL of USP Azithromycin RS in *Mobile phase*. Sonicate and shake as needed to dissolve.  
**Sample solution:** Nominally 1 mg/mL of azithromycin in *Mobile phase* from NLT 20 Tablets, finely powdered. Sonicate and shake as needed to dissolve.

**Chromatographic system**  
(See *Chromatography* (621), *System Suitability*.)  
**Mode:** LC  
**Detector:** UV 210 nm  
**Column:** 4.6-mm × 25-cm; 5-µm packing L1  
**Column temperature:** 50°  
**Flow rate:** 2 mL/min  
**Injection volume:** 100 µL  
**System suitability**  
**Sample:** *Standard solution*  
**Suitability requirements**  
**Tailing factor:** NMT 2.0  
**Relative standard deviation:** NMT 2.0%

**Analysis**  
**Samples:** *Standard solution* and *Sample solution*  
Calculate the percentage of the labeled amount of azithromycin (C<sub>38</sub>H<sub>72</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>) in the portion of Tablets taken:

$$\text{Result} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times P \times F \times 100$$

$r_U$  = peak response of azithromycin from the *Sample solution*  
 $r_S$  = peak response of azithromycin from the *Standard solution*

## Azithromycin 1

**Diluent:** 17.5 mg/mL of dibasic potassium phosphate. Adjust with phosphoric acid to a pH of 8.00 ± 0.05. Prepare a mixture of this solution and acetonitrile (80:20).

**Standard stock solution:** Dissolve USP Azithromycin RS in *Medium* to obtain a solution having a known concentration of about (L/1000) mg/mL, where L is the label claim in mg/Tablet.

**Standard solution:** Dilute the *Standard stock solution* with *Diluent* to obtain a solution having a known concentration of about (L/2000) mg/mL, where L is the label claim in mg/Tablet.

**Sample solution:** Pass a portion of the solution under test through a suitable filter of 0.45-µm pore size. Dilute a portion of the filtrate with *Diluent* to obtain a solution having a theoretical concentration of about (L/2000) mg/mL, where L is the label claim in mg/Tablet, assuming complete dissolution.

**Chromatographic system**  
(See *Chromatography* (621), *System Suitability*.)  
**Mode:** LC  
**Detector:** UV 210 nm  
**Column:** 4.6-mm × 15-cm; 5-µm packing L1  
**Column temperature:** 50°  
**Flow rate:** 1.5 mL/min  
**Injection volume:** 50 µL  
**System suitability**  
**Sample:** *Standard solution*  
**Suitability requirements**  
**Tailing factor:** NMT 2.0  
**Relative standard deviation:** NMT 2.0%

**Analysis**  
**Samples:** *Standard solution* and *Sample solution*  
Calculate the percentage of the labeled amount of azithromycin (C<sub>38</sub>H<sub>72</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>) dissolved:

$$\text{Result} = (r_U/r_S) \times (C_S/L) \times V \times 100$$


$r_U$  = peak response of azithromycin from the *Sample solution*  
 $r_S$  = peak response of azithromycin from the *Standard solution*  
 $C_S$  = concentration of USP Azithromycin RS in the *Standard solution* (mg/mL)  
L = label claim (mg/Tablet)  
V = volume of *Medium*, 900 mL

# Валидация аналитических методик: выбор методики

pharmeuropa.edqm.eu/app/Archives/content/Archives-0/Pharmeuropa3304E.pdf

Eudra GMP FDA alerts EMA publications EDQM ЛС ЕЭК рабочая | Trello ЦЭИЗ Решения Чат gmail Перакладчык SQL TRS GMPnews

EUROPEAN PHARMACOPOEIA ONLINE PHARMEUROPA EUROPEAN PAEDIATRIC FORMULARY FREEPUB

COUNCIL OF EUROPE  
  
 CONSEIL DE L'EUROPE

## PHARMEUROPA ARCHIVES

edqm  
 European Directorate | Direction européenne  
 for the Quality of Medicines

HOME

Aperçu avant impression - C:\Users\express\AppData... 31 / 196 100%

31

32

(90 percent) at 30 °C. Allow to

**Acidity.** Dissolve 1.0 g in 10 mL of water for about 1 min. Heat gently to eliminate and 0.1 mL of phenolphthalein so the pink colour just disappears, stop blank titration. The difference between the colour of the indicator in the blank

**Loss on drying (2.2.32):** maximum at 60 °C for 4 h.

**Sulfated ash (2.4.14):** maximum

**ASSAY**

Gas chromatography (2.2.28).

**Internal standard solution.** Dissolve and dilute to 100.0 mL with the same solvent.

**Test solution.** Dissolve 25.0 mg of and dilute to 25.0 mL with the same solvent.

**Reference solution.** Dissolve 25.0 mg of and dilute to 25.0 mL with the same solvent.

**Column:**

- material: fused silica;
- size: l = 30 m, Ø = 0.25 mm;
- stationary phase: methylpolysiloxane.

**Carrier gas: helium for chromatography.**

**Flow rate: 2 mL/min.**

www.uspchromcolumns.com/chrom/display

USP Chromatographic Columns

RESOURCES CONTACT US LOGOUT

Monograph Name or General Chapter <###>  SEARCH ?

Packing, GC Phase or Support  SEARCH ?

34(3)	L6Z	Shodex ODP-50	Assay	Analytical column: 4.6 mm x 15 cm, 5 µm, guard column: 4.6 mm x 1 cm, 5 µm. Manufacturer: Shodex
34(3)	L29	Gammabond ARP-1	Limit of . . . . .	Limit of azithromycin N-oxide test. Analytical column 4.6 mm x 15 cm, 5 µm, guard column 4.6 mm x 5 cm, 5 µm. Manufacturer: PerkinElmer
37(3)	L49	Zirchrom PBD	Organic Impurities	Procedure 1: Limit of Azithromycin N-oxide. 4.6 mm x 15 cm, 5 µm. Manufacturer: ZirChrom Separations Inc.
34(3)	L6Z	Shodex ODP-50	Related compounds	Analytical column: 4.6 mm x 25 cm, 5 µm. Guard column 4.6 mm x 1 cm, 5 µm. Manufacturer: Shodex

**AZITHROMYCIN FOR ORAL SUSPENSION**

PF	LGS#	Column Brand	Type Of Test	Comments
21(3)	L29	Gammabond ARP-1	Assay	Analytical column: 4.6 mm x 15 cm, 5 µm. Guard column: 4.6 mm x 5 cm, 5 µm. Manufacturer: PerkinElmer
43(4)	L1	Inertsil ODS-3V	Assay	4.6 mm x 25 cm, 5 µm. Manufacturer: GL Sciences
43(4)	L1	Inertsil ODS-3V	Dissolution	4.6 mm x 15 cm, 5 µm. Manufacturer: GL Sciences
43(4)	L1	XBridge C18	Organic Impurities	4.6 mm x 25 cm, 5 µm. Manufacturer: Waters Corp.

**AZITHROMYCIN TABLETS**

PF	LGS#	Column Brand	Type Of Test	Comments
39(6)	L1	Hypersil BDS C18	Assay	4.6 mm x 25 cm, 5 µm. Manufacturer: Thermo Scientific
34(5)	L1	XTerra RP 18	Assay and Related Compounds	4.6 mm x 25 cm, 5 µm. Manufacturer: Waters Corp.
34(5)	L1	XTerra RP 18	Dissolution	4.6 mm x 15 cm, 5 µm. Manufacturer: Waters Corp.
39(6)	L1	XBridge C18	Organic Impurities	4.6 mm x 15 cm, 3.5 µm. Manufacturer: Waters Corp.



## Валидация аналитических методик: документация

Целесообразно разрабатывать совмещённый документ: **валидационный протокол/отчёт**

Протокольная часть может содержать

- наименование валидируемой методики
- цель валидации
- детальное описание методики
- информацию об образцах
- описание проверяемых валидационных характеристик и критерии допуска

## Валидация аналитических методик: документация

Отчётная часть может заменять собой традиционные аналитические записи (аналитические листы/протоколы/журналы) и содержать

- даты и условия проведения испытаний
- ссылки на применяемое оборудование, реактивы, стандартные образцы и материалы
- регистрацию приготовления реактивов и растворов
- показания приборов
- расчёты и результаты
- регистрацию отклонений
- заключения о соответствии (несоответствии) валидационных характеристик заданным пределам
- идентификацию лиц, проводивших испытания и проверявших отчёт

## Валидация аналитических методик: документация

В конце отчёта приводится **заключение о подтверждении** (не подтверждении) пригодности методики для проведения испытаний

В приложении к отчёту размещается

оригинальный **текст использованной методики**,

**копии сертификатов** на использованные стандартные образцы и свидетельств о калибровке испытательного оборудования

## Валидация аналитических методик: стандартные образцы

Стандартные образцы, как правило, являются **определяющим фактором** при выборе методики

Необходимо использовать стандартные образцы, указанные в валидируемой методике

«Если фармакопейные стандартные образцы используются для целей, отличных от тех, для которых они были созданы, их пригодность должна быть доказана» (ГФ РБ)

Необходимо тщательно оценить необходимые количества стандартных образцов до начала валидационных испытаний

# Валидация аналитических методик: валидационные характеристики

## Специфичность

- Анализ плацебо
- Анализ чистоты пика
  - (?) должны быть описаны настройки программного обеспечения; установлены критерии приемлемости
- Анализ с помощью колонок другой полярности
  - (?) должна быть разработана методика; установлены критерии приемлемости

## Валидация аналитических методик: валидационные характеристики

### Правильность: открываемость

- Проводится для оценки влияния матрицы на определение АФИ
- Можно испытывать путём прибавления известного количества стандартного образца к испытуемому образцу
- Для оценки используется отклонение полученного значения концентрации от теоретического
- Допустимый предел в различных источниках лежит в диапазоне 2,0 % - 3,0 %

## Валидация аналитических методик: валидационные характеристики

### Сходимость/повторяемость

- Проводится для оценки стабильности системы
- Испытывают путём анализа двух параллельно приготовленных стандартных образцов (концентрация около 100 % от номинальной)
- Для оценки используется RSD для рассчитанных откликов/концентраций
- Допустимый предел определяется в соответствии с требованиями ГФ РБ и зависит от количества измерений (заколов, снятий оптической плотности и т.п.)

## Валидация аналитических методик: валидационные характеристики

### Линейность

- Испытывают путём анализа трех приготовленных стандартных образцов (концентрация около 80 %, 100 %, 120 % от номинальной)
- При валидации методик по тестам «Растворение» или «Однородность дозированных единиц» диапазон концентраций должен быть соответственно расширен
- Рекомендуется готовить растворы из разных навесок стандартного образца
- Для оценки используется  $r^2$  (квадрат коэффициента корреляции) полученных сигналов/концентрации растворов и (иногда) отношение  $y\text{-intercept}/y(100\%)$
- Допустимый предел в различных источниках лежит в диапазоне от  $r^2 \geq 0,9990$ ; для  $y\text{-intercept}/y(100\%)$  - в диапазоне 2,0 % - 3,0 %



## Валидация аналитических методик: валидационные характеристики

### Предел количественного определения (QL)

- Величину предела количественного определения необходимо определить при разработке валидационного протокола, исходя из точности методики. Например, если спецификация описывает допустимое содержание примеси как «не более 0,5 %», то целесообразно принять QL не более 0,1 %
- Испытывают путём анализа смеси плацебо и стандартного образца с концентрацией около QL
- Для оценки используется, например, отношение S/N (для хроматографии)
- Допустимый предел обычно определяется как 10:1

# Валидация аналитических методик: подготовка практической части

## Часть 1: вопросы

Проанализируйте презентацию и свои впечатления от неё. Обсудите её с коллегами. Если у вас возникли вопросы, составьте их перечень и направьте в наш адрес ([info@gospharmnadzor.by](mailto:info@gospharmnadzor.by))

## Часть 2: практика

Мы предлагаем вам один случай валидации аналитической методики из нашей практики. Ваша задача - подобрать подходящую для нашей проблемы методику, создать «рыбу» валидационного протокола (протокола/отчёта) и направить в наш адрес ([info@gospharmnadzor.by](mailto:info@gospharmnadzor.by))

**Абакавира сульфат/ Ламивудин, диспергируемые таблетки 60 мг/ 30 мг, производитель Mylan Laboratories Limited, Индия**

Мы проанализируем полученные вопросы и протоколы и проведём вторую часть обучения с разбором часто встречающихся ошибок, ответами на вопросы и обсуждением практической реализации валидационных испытаний

**Благодарю за внимание**